ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA
VOL. VI, 3. SECTIO D 1951

Zakład Chemii Fizjologicznej Wydz. Lek. Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik Zakładu: Prof. dr J. Opieńska-Blauth

Tomasz BORKOWSKI

Wpływ kwasu solnego na bibułę filtracyjną w świetle badań chromatograficznych

Влияние соляной кислоты на фильтровальную бумагу в хроматографических исследованиях

The effect of hydrochloric acid on the chromatographic paper

Prace nad chromatograficznym rozdzieleniem estrów kwasu fosforowego prowadzone przez Isherwood'a i Hanes'a (1) pozwoliły na identyfikację różnych estrów na zasadzie różnicy w ich współczynniku R_F Autorzy ci, zastosowali w swej pracy metodykę hydrolizy estrów fosforanowych bezpośrednio na bibule chromatograficznej przy pomocy kwasu solnego, kwasu nadchlorowego i molibdenianu amonowego. Po hydrolizie uwolnione związki wywoływano na bibule reakcją barwną, charakterystyczną dla fosforanów. Ponieważ zastosowana przez autorów metodyka nie dała nam oczekiwanych rezultatów, staraliśmy się przeprowadzić określenia jakościowe estrów fosforanowych na zasadzie hydrolizowania ich i oznaczania uwolnionych związków redukujących. Do hydrolizy estrów fosforanowych używano 1 N kwasu solnego. Samą hydrolizę starano się przeprowadzić bezpośrednio na bibule chromatograficznej w sposób podany przez wyżej wymienionych autorów. Zachodziła jednak możliwość, że sama bibuła filtracyjna będąca preparatem celulozowym może ulegać w tych warunkach hydrolizie.

Jak wiadomo poddawanie celulozy działaniu stężonych kwasów mineralnych prowadzi do zmian struktury wielkocząsteczkowej celu-

lozy i wydzielania wolnej d-glukozy. Bezpośrednia hydroliza oczyszczonego włókna bawełnianego, które według Payena (2) należy uważać za czystą celulozę, daje w wyniku przy użyciu 72% kwasu siarkowego 90,7% d-glukozy.

Odnośnie hydrolitycznego działania kwasu solnego na celulozę, znamy szereg dawniejszych prac, które nie uwzględniają dokładniejszych danych w stosunku do stężenia kwasu i warunków przeprowadzania hydrolizy. Bibuła filtracyjna poddana hydrolizie przy użyciu 5% kwasu solnego w temperaturze 100°C przez 48 godzin, uwalniała w wyniku 42% cukru redukującego.

Willstätter i Zechmeister (15) stwierdzili, że 40% kwas solny rozpuszcza w kilku sekundach celulozę w ilości około 15%, natomiast rozpad hydrolityczny celulozy zachodzi całkowicie dopiero po 48 godzinach, uwalniając 96,3% d-glukozy, której obecność i ilościowe oznaczenie przeprowadzono przy pomocy polarymetru. Fakt rozpadu celulozy pod wpływem kwasu solnego, występujący dopiero po upływie pewnego czasu, nasunął przypuszczenie, że w przebiegu hydrolizy powstają produkty pośrednie między celulozą a glukozą. Również Willstätter i Zechmeister przypuszczają, że w okresie od początku zadziałania kwasu solnego do ustalenia stałego kąta skręcenia w polarymetrze, powstaje jakiś produkt pośredni. Jednakże autorzy ci w wyniku hydrolizy celulozy kwasem solnym innego związku poza glukozą nie zdołali wykazać.

Nowsze badania oparte na opisanej powyżej obserwacji Willstättera, że stężony kwas solny rozpuszcza materiał celulozowy w temperaturze pokojowej, pozwoliły na dokładniejsze przebadanie otrzymanych produktów hydrolizy. Stwierdzono mianowicie, że w wyniku hydrolizy stężonym kwasem solnym, otrzymuje się oprócz d-glukozy, celobiozy i celotriozy, zidentyfikowanych na zasadzie porównywania z takimiż preparatami otrzymanymi drogą acetolizy, jeszcze dwa nowe jednocukrowce, a mianowicie celotetrozę i celopentozę.

Klasycznym doświadczeniem stwierdzającym obecność w produktach hydrolizy celulozy, dwucukrowca celobiozy, była praca Franchimont'a (5) z 1879 r. Doprowadził on przez długotrwałe traktowanie włókna bawełnianego bezwodnikiem kwasu octowego i kwasem siarkowym, do otrzymania jako końcowego produktu hydrolizy, ośmiooctanu celobiozy. Wspomniane doświadczenie Franchimont'a znalazło potwierdzenie w szeregu nowych prac.

Wiele preparatów celulozowych nie będących czystą celulozą, posiada liczne domieszki innych węglowodanów wielkocząsteczkowych. Najczęstszymi związkami towarzyszącymi preparatom celulozowym są ksylan i araban.

Badanie działania hydrolitycznego kwasu solnego na bibułę filtracyjną z punktu widzenia chromatografii bibułowej i wpływu różnych warunków towarzyszących temu działaniu oraz w mniejszym stopniu innych kwasów, było tematem poniżej opisanych doświadczeń.

Metodyka badań

Do badań zastosowano metodę rozdzielczej chromatografii na bibule. Wybór tej metody badań był uzasadniony następującymi względami: 1. Zagadnienie związane z hydrolizą bibuły filtracyjnej przy pomocy kwasu solnego wiąże się ściśle z metodyką badań chromatograficznych. 2. Przy pomocy tej metody można z łatwością prześledzić postępowanie hydrolizy bibuły oraz wykazać z jakiego rodzaju cukrami redukującymi mamy w tym wypadku do czynienia. 3. Wspomniana metoda cechuje się znaczną czułością umożliwiającą wykrycie w jednej kropli, wielkości 3—5 mikrolitra badanej substancji, ilości cukrów redukujących wahających się w granicach stężenia 0,01—1,0%.

W doświadczeniach stosowano oryginalną metodę opracowaną przez Consdena, Gordona i Martina (3) z uwzględnieniem pewnych modyfikacji opisanych przez Opieńską-Blauth, Kańskiego i Drozdowskiego (13).

Do badań używano bibuły filtracyjnej Whatmana Nr 1 szeroko stosowanej przez radzieckich badaczy przy chromatografii bibułowej różnych związków organicznych, a między innymi kreatyny i kreatyniny. Jako układu rozpuszczalników użyto następujących płynów: butanolu, wody i pirydyny w stosunku ilościowym zastosowanym po raz pierwszy przez Opieńską-Blauth i Madecką-Borkowską (12). Wybór tego układu wydawał się celowym z tego względu, że umożliwia on w łatwy sposób rozdzielenie cukrów redukujących o zbliżonym współczynniku R_F bez uciekania się do chromatografii dwukierunkowej. Fakt ten nie jest bez znaczenia w określaniu cukrów uwolnionych z bibuły filtracyjnej pod wpływem jej hydrolizy.

Do wywoływania cukrów na bibule stosowane były metody:

1) z odczynnikiem benzydynowym,

2) z azotanem srebrowym (metoda zmodyfikowana).

Część doświadczalna

D o ś w i a d c z e n i e I.

Na wstępie starano się wykazać, czy sama bibuła przed rozpoczęciem hydrolizy zawiera ślady wolnych ciał redukujących. Doświadczenie przeprowadzono w następujący sposób:

Skrawki bibuły o wymiarach 9 x 9 umieszczono w dwóch probówkach zawierających po 5 ml wody. Jedną z nich poddawano działaniu podwyższonej temperatury, utrzymując ją w łaźni wodnej w 100°C przez okres 3 godzin, drugą natomiast utrzymywano w temperaturze pokojowej w ciągu 24 godzin. Po odpowiednim czasie wyciśnięto z bibuły cały płyn i wkroplono z niego na bibułę chromatograficzną po 10 kropli w każdym punkcie. Pasek bibuły umieszczono w kamerze chromatograficznej celem nasycenia jej obydwoma fazami w ciągu 24 godzin. Po nasyceniu, bibułę dano do spływu na okres 24 godzin. Fazą ruchomą była faza butanolowa, zaś fazą nieruchomą woda. Dalszym etapem było wysuszenie chromatogramu w temperaturze pokojowej i wywołanie jej na obecność ciał redukujących za pomocą reakcji barwnej z odczynnikiem benzydynowym oraz za pomocą zmodyfikowanej metody z azotanem srebrowym. Stwierdzenie faktu nieobecności w bibule wolnych ciał redukujących, pozwoliło na przystąpienie do właściwego zagadnienia wpływu kwasu solnego na bibułę chromatograficzną w różnych warunkach doświadczalnych.

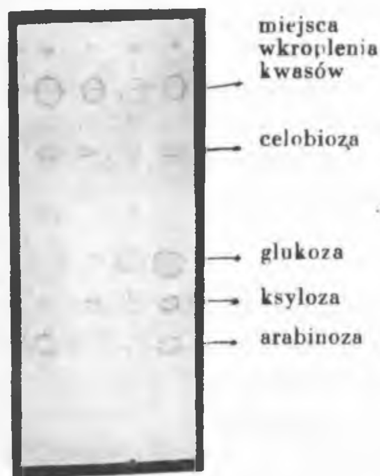
D o ś w i a d c z e n i e II.

Celem tego doświadczenia było ustalenie czasu i temperatury potrzebnych do przeprowadzenia hydrolizy bibuły 1 N kwasem solnym, uchwytnej przy pomocy metody chromatograficznej. Postępowanie nasze polegało na umieszczeniu równych skrawków bibuły w szeregu probówek, do których dodano po 5 ml 1 N kwasu solnego. Część probówek umieszczono w łaźni wodnej w 100°C, część zaś pozostawiono w temperaturze pokojowej. Dla obydwu serii probówek uwzględniono następujący czas hydrolizy: 10 min., 30 min., 1 godz., 2 godz.

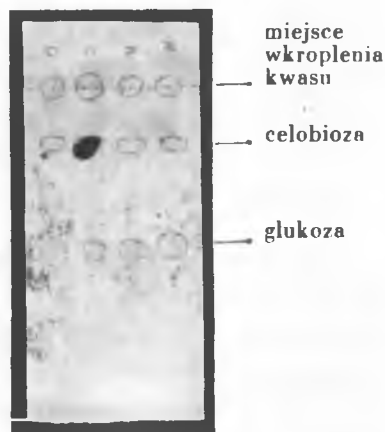
i 3 godz. Hydrolizaty przed wkropleniem na bibułę chromatograficzną zobojętniano przy pomocy 1 N wodorotlenku sodowego. Stosowanie techniki zobojętniania hydrolizatów nastręczało pewne trudności. Okazało się bowiem, że znaczne nagromadzenie chlorku sodowego w badanym hydrolizacie powodowało zahamowanie spływu związków redukujących, które pod postacią wąskiego rąbka gromadziły się nad miejscem odpowiadającym skupieniu NaCl. Trudność tę usunięto stosując odparowywanie klarownych hydrolizatów w próżni i rozpuszczanie pozostałych związków redukujących w pirydynie. W ten sposób ilości uwolnionych związków redukujących można było dowolnie zagęszczać. Stosowanie tej metody pozwoliło również usunąć bezpośredni wpływ kwasu solnego na pasek bibuły chromatograficznej.

D o ś w i a d c z e n i e III.

Z kolei starano się ustalić wpływ stężenia kwasu solnego działającego bezpośrednio na bibułę chromatograficzną. W tym celu na jednym pasku bibuły wkroplono różne ilości kwasu solnego o stężeniach: 0,1 N, 1 N i 7 N. Między wkropleniem każdej następnej kropli bibułę suszono prądem ciepłego powietrza. Po 24 godzinnym czasie spływu, chromatogramy wywołano przy pomocy 2 reakcji: z benzydyną (Ryc. 1b) i z azotanem srebrowym (Ryc. 1a).,



Rys. 1 a.
Chromatogram wywołany azotanem srebrowym



Rys. 1 b.
Chromatogram wywołany odczynnikiem benzydynowym

Doświadczenie IV.

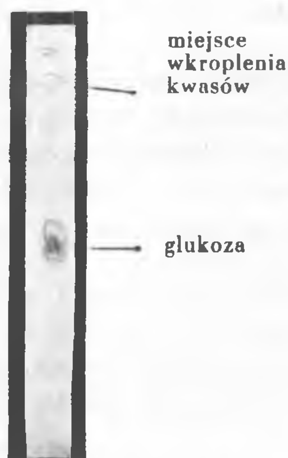
W doświadczeniu tym starano się zbadać wpływ kwasu siarkowego na bibułę filtracyjną. I w tym wypadku postępowanie było dwukierunkowe. Z jednej strony badano jak zachowuje się sam pasek bibuły chromatograficznej pod wpływem bezpośredniego wkroplenia kwasu o różnych stężeniach, z drugiej zaś strony badano wpływ kwasu na skrawki bibuły umieszczone w probówkach i poddane działaniu różnych temperatur. W tym wypadku, w którym działano na bibułę kwasem siarkowym w probówce, hydrolizat zobojętniano przy pomocy NaOH i odparowywano w próżni do sucha. Pozostałość rozpuszczano w pirydynie i wkraplano na pasek bibuły chromatograficznej, który po spływie wywoływano wyżej wymienionymi reakcjami barwnymi.

Doświadczenie V.

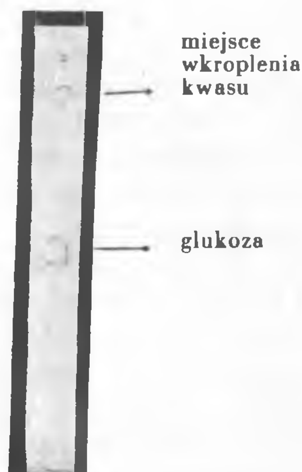
Ponieważ w licznych pracach stwierdzono, że hydroliza celulozy przy pomocy mieszaniny kwasu siarkowego i bezwodnika kwasu octowego prowadzi do wydzielenia jako końcowego produktu hydrolizy ośmiooctanu celobiozy, staraliśmy się układ ten zastosować do hydrolizy bibuły używanej przez nas w chromatografii. Postępowanie było podobne do opisywanego w powyższych doświadczeniach. Do probówek zawierających skrawki bibuły dodano po 4,5 ml 1 N kwasu siarkowego oraz 0,5 ml bezwodnika kwasu octowego. Probówki z chłodniczkami zwrotnymi umieszczono w łaźni wodnej w 100°C. Próby pobierano po upływie 1, 2 i 3 godzin. Zobojętnione, odparowane a następnie rozpuszczone w pirydynie produkty hydrolizy, wkraplano na pasek chromatograficzny i postępowano w sposób wyżej opisany.

Doświadczenie VI.

W końcowym doświadczeniu przystąpiono do identyfikacji poszczególnych cukrów uwolnionych w czasie hydrolizy bibuły. Podstawą do różnicowania były charakterystyczne współczynniki R_F dla każdej z plam związków redukujących oraz porównanie z plamami powstałymi z wkroplenia czystych kontrolnych cukrów. W ten sposób określono związki uwolnione w czasie hydrolizy przy pomocy kwasu siarkowego (Ryc. 2a i 2b), mieszaniny kwasu siarkowego i bezwodnika kwasu octowego (Ryc. 3a i 3b) oraz kwasu solnego (Ryc. 1a i 1b).

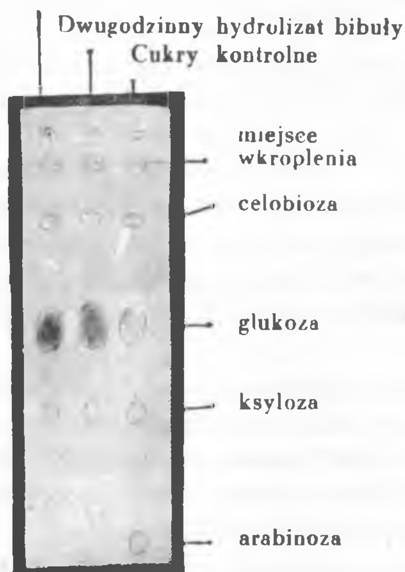


Rys. 2 a.
Chromatogram wywołany
azotanem srebrowym

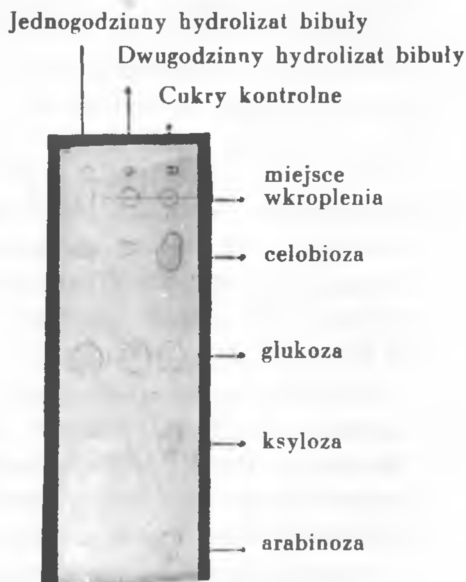


Rys. 2 b.
Chromatogram wywołany
odczynnikiem benzydynowym

Jednogodzinny hydrolizat bibuły



Rys. 3 a.
Chromatogram wywołany
azotanem srebrowym



Rys. 3 b.
Chromatogram wywołany
odczynnikiem benzydynowym

Dyskusja

Zastosowanie chromatografii bibułowej w badaniach, pozwala na łatwe i proste identyfikowanie różnych związków chemicznych, a nawet w przybliżeniu na określanie ich ilości. Wprowadzając dla różnych substancji odpowiednie modyfikacje metodyczne, można zetknąć się z pewnymi trudnościami. W naszych badaniach nad rozdzieleniem estrów fosforanowych w pożywkach bakteryjnych, trudnością taką była niemożność przeprowadzenia hydrolizy tych estrów bezpośrednio na bibule chromatograficznej przy pomocy kwasu solnego. Okazało się bowiem, że 1 N kwas solny w krótkotrwałym działaniu na bibułę filtracyjną, powoduje w niej zmiany chemiczne uniemożliwiające użycie jej do dalszych badań.

Szczególnie niedogodnym jest użycie kwasu solnego do badań nad związkami redukującymi Krótkotrwałe działanie kwasu solnego na bibułę filtracyjną w temperaturze pokojowej wywołuje częściowy jej rozpad hydrolityczny i uwolnienie cukrów redukujących takich jak glukoza, ksyloza i arabinoza oaz dwucukrowca celobozy. Stężenie kwasu solnego, powodujące w tych warunkach hydrolizę bibuły, mieści się w granicach od 0,1 N do 7 N. Jedna kropla 0,1 N kwasu solnego wkroplona na bibułę chromatograficzną powoduje uwolnienie z niej śladów glukozy. Natomiast wkroplenie 10 kropli 0,1 N kwasu solnego powoduje wydzielenie z bibuły już kilku cukrów redukujących oraz wzmocnienie plamy odpowiadającej glukozie. Z powyższych danych wynika jasno, że w badaniach nad chromatograficznym określeniem węglowodanów, używanie mieszanin zawierających kwas solny nie pozwala na wyprowadzenie właściwych wniosków. Z tych samych względów nie można przeprowadzać hydrolizy związków redukujących bezpośrednio na bibule chromatograficznej.

Starano się również ustalić, czy inne kwasy, szczególnie kwas siarkowy, wywierają podobny wpływ na bibułę chromatograficzną. Okazało się jednak, że wkroplenie na bibułę kwasu siarkowego w stężeniach odpowiadających stężeniom kwasu solnego, nie powoduje hydrolizy bibuły i uwolnienia wolnych ciał redukujących.

Do wywoływania plam związków redukujących na bibule zastosowano dwie reakcje: a) reakcję z odczynnikiem benzydynowym, b) zmodyfikowaną reakcję z azotanem srebrowym. Na podstawie porównania dwóch analogicznych chromatogramów stwierdzono więk-

szą czułość tej ostatniej. Zauważono bowiem, że na chromatogramach wywołanych azotanem srebrowym, otrzymano szereg plam, nie uwidoczniających się na chromatogramach, które wywołano przy pomocy odczynnika benzydynowego. Fakt ten przemawia wyraźnie na korzyść techniki wywoływania chromatogramów zmodyfikowaną metodą z azotanem srebrowym.

Oprócz wniosków odnoszących się ściśle do samej metodyki chromatograficznej, poczyniono szereg spostrzeżeń na temat hydrolizy bibuły filtracyjnej przy pomocy kwasów. Niektóre z tych spostrzeżeń znajdują potwierdzenie w piśmiennictwie. Tak na przykład hydrolizowanie bibuły przy pomocy 1 N kwasu siarkowego prowadzi do uwolnienia z bibuły wolnej glukozy, bez stwierdzenia jakichkolwiek innych ciał redukujących, powstałych w wyniku rozpadu bibuły. Ilość uwolnionej glukozy wzrasta w miarę postępu czasu hydrolizy i wzrostu stężenia kwasu. Metodą chromatografii nie udało się stwierdzić hydrolitycznego działania na bibułę małych stężeń kwasu siarkowego w temperaturze pokojowej.

W wyniku hydrolizy bibuły przeprowadzonej przy użyciu bezwodnika kwasu octowego i kwasu siarkowego otrzymano następujące związki:

a) glukozę — w największej ilości,
b) celobiozę,
c) ksylozę,
d) bliżej niezidentyfikowany związek redukujący, o współczynniku R_F nieco mniejszym od arabinozy.

Powyżej opisane wyniki nie zupełnie potwierdzają spostrzeżenia Franchimont'a oraz innych autorów. Franchimont bowiem otrzymał jako jedyny końcowy produkt hydrolizy celulozy przy użyciu bezwodnika kwasu octowego i kwasu siarkowego ośmiooctan celobiozy. Wytłumaczenia tego faktu należy szukać w pewnych różnicach metodycznych. Użyta przez nas bibuła filtracyjna Whatman Nr 1 nie jest w myśl definicji Payena czystą celulozą i może zawierać domieszki innych wielocukrowców, takich jak ksylan, araban i inne. Zawartość tych ciał w bibule jest jednak w stosunku do innych preparatów celulozowych (papier gazetowy) nieznaczna, tak że reakcja Tollensa z floroglucyną dla tej bibuły wypada ujemnie. Używana przez nas mieszanina: 1 N kwas siarkowy i bezwodnik kwasu octowego w sto-

sunku 90 : 10 była oryginalną dla powyższych doświadczeń. Jej działanie hydrolityczne było w efekcie bardzo podobne do działania kwasu solnego na bibułę.

W czasie przeprowadzania opisanych wyżej doświadczeń stwierdzono również, że hydrolityczny rozpad bibuły pod wpływem małych stężeń kwasu solnego, wyzwalający w efekcie szereg związków redukujących, przebiega ze znaczną szybkością. Dawniejsze prace Willstättera wskazują także na fakt, że celuloza pod wpływem 40% kwasu solnego ulega bardzo szybkiemu rozpuszczeniu, lecz jej całkowita hydroliza do glukozy następuje dopiero po 48 godzinach. Późniejsze badania potwierdziły te dane oraz doprowadziły do zróżnicowania końcowych produktów hydrolizy. Badania te przeprowadzane były jak wyżej wspomniano przy użyciu kwasu solnego stężonego. W naszych badaniach zaś stwierdzono, że kwas solny już w stężeniu 0,1 N powoduje po 2 godzinnym działaniu uwolnienie z bibuły glukozy w ilości zezwalającej na redukcję odczynnika benzydynowego, względnie azotanu srebrowego. W miarę zwiększania stężenia kwasu solnego, zwiększało się natężenie plamy odpowiadającej glukozie oraz pojawiały się dodatkowe plamy takich związków jak celobioza, ksyloza i arabinoza. Stężony kwas solny powodował hydrolizę bibuły bezpośrednio do glukozy, nie dając żadnych innych plam dodatkowych.

Największe ilości plam związków redukujących otrzymano pod wpływem działania 1 N kwasu solnego w ilości 10 kropli na 1 cm^2 bibuły filtracyjnej. We wszystkich wypadkach hydrolitycznego działania kwasu solnego na bibułę, największe plamy otrzymywano dla glukozy. Inne wyżej wymienione związki występowały w stężeniach nieznacznych, dostatecznych jednak do przeprowadzenia redukcji azotanu srebrowego.

Występowanie w otrzymanych hydrolizatach także pewnej ilości pentoz, starano się wytłumaczyć samą strukturą chemiczną hydrolizowanej bibuły. Bibuła filtracyjna nie jest czystą celulozą, ale preparatem, w którym naczelne miejsce zajmuje celuloza, obok nieznacznej ilości innych ciał węglowodanowych, takich jak araban i ksylan. Dowodem na nieznaczne tylko zanieczyszczenie celulozy bibuły innymi węglowodanami jest ujemna próba Tollensa z floroglucyną. Pod działaniem kwasu solnego najwcześniej ulega hydrolizie celuloza. W wyniku procesu rozpadu celulozy, otrzymujemy przeważnie glukozę, a tylko nieznaczną ilość celobiozy. W miarę postępu czasu hydrolizy

nie dochodzi do znaczniejszego nagromadzenia się celobiozy, która prawdopodobnie ulega dalszemu rozpadowi do glukozy. Dopiero po pewnym czasie hydrolizy pojawiają się plamy ksylozy i arabinozy, przy czym wcześniej pojawia się plama ksylozy, a później arabinozy. Związki te są dowodem na obecność w bibule filtracyjnej Whatman Nr 1 takich wielocukrowców, jak araban i ksylan. Wzrost natężenia plam odpowiadających pentozom, był w czasie postępu hydrolizy nieznaczny. Przypuszczamy, że sama bibuła zawiera tylko nieznaczną ilość arabanu i ksylanu.

Kwestia dokładniejszego przebadania tych danych, stoi nadal otwarta. Sprawa ta, interesowała nas głównie z punktu widzenia chromatografii bibułowej i jej metodyki. Wnioski ogólne wyciągnięte z tej pracy, wskazują na znaczne trudności, na jakie napotykamy w chromatografii bibułowej w związku z małą odpornością bibuły na działanie kwasu solnego.

PIŚMIENNICTWO

1. Bell D. J, Hopkins F. G. — Introduction to carbohydrate biochemistry. London, 1948.
2. Honeyman J. — An introduction to the chemistry of carbohydrates. Oxford, 1948.
3. Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P. — Biochem. J. 38/244, 1944.
4. Epstein J. A., Fomin M. P. — Biochimia tom 15, zeszyt 4, 321, 1950.
5. Franchimont A. P. N. — Ber. 12 1941 (1879) Rec. trav. chim. 18, 472 (1899) cyt. wg Hess K. Die Chemie der Cellulose und ihrer Begleiter. Leipzig, 1928.
6 Compton J. — Advances in carbohydrate chemistry 3, 191, 1948.
7. Horks R. H. — Nature 164, 444, 1949.
8. Isherwood F. A. i Hanes C. S. — Nature 164, 1949.
9 Mc Ilory R.J. — The polysaccharides. London, 1948.
10. Monier Williams G. W. — J. Chem. Soc. 119, 803, 1921.
11. Nord F. F., Vitucci J. C. — Advances in enzymology VIII, 255, 1948.
12. Opieńska-Blauth J. i Madecka Borkowska I (w druku).
13. Opieńska-Blauth J., Kański M., Drozdowski E. — (w druku).
14 Trawelyan W. Z., Procter D. D., Harrison J. S. — Nature 166, 1950.
15. Willstätter R., Zechmeister L. — Ligninabtrennung durch konz. Salzsäure cyt. wg Hess K., Katz J. R., Haller R. Die Chemie der Cellulose und ihrer Begleiter. Leipzig, 1928.
16 Zechmeister L., Toth G. — Ber. 68, 1594 (1935).

РЕЗЮМЕ

Намеренная нами работа хроматографического разделения сложных эфиров фосфорной кислоты в питательных средах требовала проведения ряда опытов, которые далибы возможность применения техники гидролиза этих эфиров непосредственно на фильтровальной бумаге. В результате многих опытов констатировано малую сопротивляемость фильтровальной бумаги Whatman Nr 1 на гидролитическое действие соляной кислоты. Под влиянем кратковвременного действия 1 N соляной кислоты на бумагу увольняется из нее ряд редуцирующих тел, как глюкоз, целлобиоз, ксилоз н арабиноз. Этот факт препятствует применению гидролиза фосфорных эфиров или иных редуцирующих тел непосредственно на фильтровальной бумаге. Другие кислоты, как серная или смесь ее с ангидридом уксусной кислоты — не вызывали в подобных условиях гидролиз бумаги, уличаемый хроматографичсским методом. Применение высшей температуры и концентрации соляной кислоты давало глюкоз как единственный продукт гидролиза. При гидролизации бумаги в течении нескольких часов в температуре 100° C посредством смеси соляной кислоты и уксусного ангидрида получается: глюкоз в наибольшей концентрацни, целлобиоз, ксилоз, и ближе не обозначенное редуцирующее соединение, обладающее фактором R_F, приближенным к арабинозу. Выводы труда уличают малую сопротивляемость фильтровальной бумаги на гидролитическое влияние кислот низких концентраций, особенно соляной кислоты, что является препятствием к применению гидролиза редуцирующих веществ непосредственно на фильтровальной бумаге.

SUMMARY

Aiming at a work on the chromatographic separation of phosphate esters in bacterial cultures there has been performed a number of experiments as to the possibility of hydrolysing the esters directly on the filter paper.

It has been stated a litte resistance of Whatman's paper Nr 1 against the hydrolitic action of the hydrochloric acid which caused the liberation of seweral reducing compounds such as glucose, cellobiose, xylose, arabinose. This fact has been shown to interfere in hydrolising the phosphate esters as well as other reducing compounds directly on the chromatographic paper. The sulphuric acid and its combination with acetic acid anhydride did not cause any remarkable hydrolisis under analogical conditions .Using a higher sulphuric acid concentration at a higher temperature it was possible to obtain glucose as the sole product of the hydrolisis. However, a lew hours lasting hydrolisis of the mentioned filter paper at 100°C with a mixture of sulphuric acid and acetic acid anhydride has been proved to liberate the glucose (in max. concentration), cellobiose, xylose and an unidentified reducing compound with R_F approaching the arabinose.

In conclusion it has been give evidence of a small resistance of the filter paper against the hydrolytic action of low concentrated acids (especially hydrochloric acid) that may interfere in hydrolysing some reducing substances directly on the chromatographic paper.

Papier druk. sat. III kl. 90 g. Format 70 x 100. Ark. druku ³/₄ i 1 str.
Annales U. M. C. S. Lublin 1951. Lub. Druk. Prasowa Lublin, Kościuszki 4, Zam. nr 1357, 31.VIII.51
1.500 egz. A-2-13224 Data otrzymania manuskryptu 31.VIII.51. Data ukończenia druku 25.X.51.